

⑤

Int. Cl. 2:

G 01 N 15/00

⑱ **BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**

DEUTSCHES



PATENTAMT

DT 25 21 236 A 1

⑪

Offenlegungsschrift 25 21 236

⑫

Aktenzeichen:

P 25 21 236.6-52

⑬

Anmeldetag:

10. 5. 75

⑭

Offenlegungstag:

18. 11. 76

⑳

Unionspriorität:

⑳ ㉑ ㉒

⑤

Bezeichnung:

Einrichtung zum Zählen und Messen von in einer Flüssigkeit suspendierten Teilchen

⑦

Anmelder:

Göhde geb. Kuhl, Hildegard, Dr., 4400 Münster

⑧

Erfinder:

gleich Anmelder

Prüfungsantrag gem. § 28 b PatG ist gestellt

2521236

Hamburg, den 2. Mai 1975

175175

Anmelder:

Dr. Hildegard Göhde

4400 Münster

v.-Stauffenberg-Str. 40

Einrichtung zum Zählen und Messen von in einer
Flüssigkeit suspendierten Teilchen

Die Erfindung betrifft eine Einrichtung gemäß dem Oberbegriff
des Anspruches 1.

Einrichtungen zum Zählen und Messen von in einer Flüssigkeit
suspendierten Teilchen werden in der Medizin in zunehmendem
Maße für die Untersuchung von Zellen benutzt. Der einschlägi-
ge Stand der Technik ist z.B. in der DT-PS 2 050 672 ein-
gehend dargelegt worden. In der DT-AS 1 919 628 ist für eine
solche Einrichtung eine Durchflußküvette beschrieben, die ein

T-förmiges Kanalsystem aufweist, bei dem über eine in der optischen Achse liegende Zuleitung die Suspension mit den zu untersuchenden Teilchen in einen dazu querliegenden Kanal, durch den ein teilchenfreier Förderstrom hindurchgeht, eingespeist wird. Bei dieser auch als Meßpore bezeichneten Anordnung ist die Meßstelle, die auch die Einstellebene des Beobachtungsmikroskops oder die Objektebene ist, die Grenz- oder Mündungsfläche zwischen der Zuleitung für die Suspension und dem quer dazu verlaufenden Durchflußkanal für den Förderstrom. Diese Fläche soll möglichst klein sein; in der Praxis wird mit Durchmessern von etwa 0,1 mm und weniger gearbeitet. Die Herstellung solcher Küvetten erfordert einen erheblichen Arbeitsaufwand. Die Meßverhältnisse sind zwar an sich günstig. Wegen dem geringen Durchmesser der Meßpore besteht aber die Gefahr, daß Zellen sich im Mündungsbereich festsetzen und die Pore verstopfen, so daß die Benutzung der Einrichtung gestört wird.

Die in der DT-PS 2 050 672 beschriebene Durchflußküvette ist ebenfalls mit einer im wesentlichen T-förmigen Anordnung von Suspensionszuleitung und Durchflußkanal für den Förderstrom ausgeführt. Die Beobachtungsstelle liegt jedoch stromabwärts von der Einmündung der Teilchensuspension, die als Schicht geringer Dicke zwischen dem ebenen Boden und der parallel dazu strömenden, teilchenfreien Förderflüssigkeit geführt wird. Der Tiefenschärfebereich erstreckt sich demnach

parallel zum Boden des Durchflußkanals unmittelbar an diesen angrenzend und hat nicht nur parallel zum Kanalboden, sondern auch in der Höhe des Kanals eine merkliche Ausdehnung, um die nicht nur unmittelbar am Boden entlangziehenden Teilchen zu erfassen. Bei dieser bekannten Einrichtung können zwar zur Zuführung der Teilchensuspensionen auch Zuleitungen mit größeren Mündungsöffnungen verwendet werden, wenn der Kanal etwa von der Einmündung des Zuflusses der Teilchensuspension aus bis vor die Meßstelle durch Annäherung der Seitenwände an die Achse des Kanals sich kontinuierlich verjüngt. Die Meßstelle liegt bei dieser Anordnung jedoch in einem Kanalabschnitt mit konstantem Querschnitt. Auch bei dieser Ausführungsform der bekannten Durchflußküvette fließen die zu untersuchenden Teilchen nicht allein in einer parallel zum Kanalboden liegenden Fläche, sondern durch einen räumlichen Bereich mit merklicher Höhe, so daß dadurch einerseits keine sichere Fokussierung der Teilchen bei der Messung möglich ist, andererseits der Zuleitungsquerschnitt eben doch sehr klein gehalten werden muß, um eine entsprechende Meßgenauigkeit zu gewährleisten, indem die Höhe des räumlichen Bereiches, durch den die Teilchen hindurchfließen, möglichst klein gehalten wird.

Die Erfindung geht deshalb von der Aufgabe aus, für eine Einrichtung der eingangs erwähnten Art die Durchflußküvette so auszuführen, daß trotz der Möglichkeit zu einfacherer

Herstellung die Fokussierung erleichtert wird und genauere Messungen gestattet. Diese Aufgabe wird für eine Einrichtung der eingangs erwähnten Art durch das Kennzeichen des Anspruches 1 gelöst.

Bei einer erfindungsgemäßen Einrichtung ist die Meßstelle praktisch wieder auf eine Durchtrittsfläche beschränkt. Bei der Justierung kommt es im wesentlichen nur darauf an, die Einstellebene oder Objektebene an die Bodenfläche des Durchflußkanales "anzuhängen". Die Erfindung gestattet weiter, den Mündungsdurchmesser der Zuleitung für den Partikelstrom in einem für die Fertigung beträchtlichen Ausmaß gegenüber dem Stand der Technik zu vergrößern, da der Suspensionsstrom von dem teilchenfreien Förderstrom in Strömungsrichtung auseinandergezogen und damit enger wird. Der Durchmesser des Partikelstromes ist an der Meßstelle erheblich kleiner als an der Einmündung der Zuleitung. Da die Einmündung der Zuleitung größer gehalten werden kann, wird die Fertigung vereinfacht und die Möglichkeit für das Eintreten von Störungen durch Verstopfung der Zuleitung ganz wesentlich verringert. Die Erfindung ermöglicht demnach sowohl für die Fertigung als auch für die Benutzung einen erheblichen Fortschritt.

Weitere Vorzüge und Merkmale der Erfindung ergeben sich aus den Ansprüchen sowie aus der nachfolgenden Beschreibung und der Zeichnung, in denen die Erfindung beispielsweise erläutert und dargestellt ist.

Es zeigen :

- Fig. 1 und 2 schematische Darstellungen des wesentlichen Teiles bekannter Einrichtungen,
- Fig. 3 eine den Fig. 1 und 2 entsprechende schematische Darstellung des wesentlichen Teiles einer erfindungsgemäßen Einrichtung,
- Fig. 4 eine vereinfacht gezeichnete Draufsicht auf einen Schnitt entlang der Linie IV-IV der Fig. 3, und
- Fig. 5 eine vereinfachte Darstellung einer erfindungsgemäßen Einrichtung.

Die in Fig. 1 dargestellte bekannte Einrichtung weist einen Durchflußkanal 10 für einen Förderstrom und einen quer zur Achse des Kanals 10 einmündenden Kanal 12 für die Teilchensuspension auf. Der Mündungsquerschnitt 16 liegt coaxial zur optischen Achse 14 und bildet die Meßstelle bzw. Einstell- oder Objektebene, durch die die Teilchen P hindurchwandern. Die Einstellung der Suspension, die Strömungsgeschwindigkeiten und der Durchmesser A des Kanals 12 im Bereich der Meßstelle 16 sind so gewählt, daß die Teilchen einzeln gezählt und gemessen werden. Das bedingt, daß der Durchmesser A etwa 0,1 mm oder noch kleiner ist. Abgesehen von den Schwierigkeiten bei der Herstellung besteht auch die Gefahr, daß die Meßstelle 16 und/oder der Kanal 12 davor verstopfen.

Bei der Einrichtung nach Fig. 2 mündet in einen Durchflußkanal 20 für einen Förderstrom eine Zuleitung 22 für die

Suspension der zu untersuchenden Teilchen P. Die Meßstelle 26 liegt in diesem Fall stromab von der Einmündung 24 des Kanals 22 in den Kanal 20. Die Meßstelle 26 kann um eine entsprechende Strecke 28, die hier nicht maßstäblich angedeutet ist, von der Einmündung 24 entfernt liegen, so daß auf dem Abschnitt 28 durch Annäherung der Seitenwände des Kanals 20 eine Verjüngung in Richtung auf den am rechten Teil der Figur liegenden Abfluß eintritt. Die Strömungsbedingungen werden auch in diesem Fall so eingestellt, daß die Teilchensuspension in einer laminaren Strömung unmittelbar über den ebenen Boden 27 fließt. Trotzdem läßt sich praktisch nicht erreichen, daß die Teilchen P im Bereich der Meßstelle 26 in einer genau ebenen Fläche geführt werden. Die Teilchen fließen durch einen Bereich, der eine bestimmte Raumhöhe über dem Boden 27 hat. Dadurch wird eine sichere Fokussierung der Teilchen bei der Messung ausgeschlossen. Außerdem muß trotz Einengung der die Teilchen P führenden Suspension auf dem Abschnitt 28 der Durchmesser A im Mündungsbereich 24 ähnlich wie in Fig. 1 verhältnismäßig klein gehalten werden, da sonst die Raumhöhe im Bereich 26 zu groß würde.

Eine erfindungsgemäße Einrichtung, siehe Fig. 3 - 5, ist mit einer in Fig. 3 und 4 vereinfacht dargestellten Durchflußküvette ausgestattet, in deren Durchflußkanal 30 eine Zuleitung 32 für eine die zu messenden Partikel P enthaltende Suspension einmündet. Der Durchflußkanal 30 führt einen Förderstrom, dessen Strömungsrichtung durch die links und rechts

am Ende des Kanals eingezeichneten Pfeile angegeben ist. Der Kanal 30 wird von einem aus ebenen Abschnitten bestehenden Boden 33, einem ebenen Deckabschnitt 39 und ebenen, zueinander parallelen Seitenwänden 44, 45 begrenzt. Der Bodenabschnitt 38 steigt zum Deckabschnitt 39 in Richtung zum Abfluß 42 hin an. Vor und hinter dem Abschnitt 38 ist der Querschnitt des Kanals jeweils konstant. Die Meßstelle oder Einstell- oder Objektebene 36 wird so eingestellt, daß sie eine parallel zum Deckabschnitt 39 liegende Fläche bildet, die bei 37 an den schrägen Bodenabschnitt 38 angrenzt.

Bei dieser Ausbildung der Durchflußküvette und Lage der Meßstelle 36 kann der Durchmesser A im Bereich der Einmündung 34 des Zuleitungskanals 32 für die Suspension merklich größer als bei den bekannten Einrichtungen, siehe auch Fig. 1 und 2, gehalten werden. Auch in diesem Fall werden die Strömungsgeschwindigkeiten so eingestellt, daß der bei 40 zufließende Förderstrom die bei 34 zufließende Suspension in einer laminaren Strömung im wesentlichen unmittelbar über den Boden 33 führt, die Strömung der Teilchensuspension dabei jedoch einengt und in Strömungsrichtung auseinanderzieht, so daß trotz größeren Querschnitts bei 34 und einfacherer Einstellung des Mikroskops die Einzelmessung der Teilchen P wesentlich besser als bei der Einrichtung nach Fig. 2 gewährleistet ist.

Die erfindungsgemäße Einrichtung insgesamt zeigt Fig. 5 in vereinfachter Darstellung. Kernstück dieser Einrichtung ist eine erfindungsgemäß ausgeführte Durchflußküvette aus einem durchsichtigen Material, insbesondere aus Glas. Die Küvette weist einen Durchflußkanal 60 auf, der an seinem einen Ende mit einer Zuleitung 63 für einen Förderstrom und an seinem anderen Ende mit einem Abfluß 65 ausgebildet ist. Zwischen den beiden Enden mündet bei 64 eine Zuleitung 62 für eine Suspension, welche die zu messenden Teilchen enthält. Der Kanal 60 ist zum Okkular 80 hin durch eine ebene Platte 61 abgedeckt. Die optische Achse 78 liegt so, daß die Objekzebene 66 der Optik parallel zu der Platte 61 liegt und bei 69 an den in diesem Bereich schräg ansteigenden Boden 68 angrenzt.

Der Zufluß 63 und die Zuleitung 62 sind mit entsprechenden Flüssigkeitsvorräten 70 bzw. 72 verbunden, die auch Fördermittel für die Flüssigkeiten enthalten. Die Fördermittel werden von einer gemeinsamen Steuerung 76 so eingestellt und gesteuert, daß im Kanal 60 eine laminare Strömung herrscht und der aus der Mündung 64 austretende Suspensionsstrom anschließend, insbesondere im Bereich des ansteigenden Bodenabschnittes 68, in die Länge gezogen wird. An den Abfluß 65 ist ein Abflußbehälter 74 angeschlossen.

Von einer Beleuchtungsvorrichtung 84 werden die durch die Meßstelle 66 hindurchwandernden Teilchen beleuchtet und

Über den halbdurchlässigen Spiegel 82 in der Aufnahmeeinrichtung 86 registriert. Die Beleuchtungseinrichtung 84 und die Aufnahmeeinrichtung 86 sind über die Anschlüsse 87a, 87b bzw. 88a, 88b an die Steuerung 76 angeschlossen, so daß ein voll automatischer Betrieb möglich ist.

Anstelle der Beobachtung mit Auflicht ist auch eine Beobachtung und Messung im durchgehenden Licht möglich, wenn die Lichtquelle entsprechend unter dem Bodenabschnitt 68 angeordnet wird. Bei Verwendung von monokromatischem Licht wird das Meßergebnis durch die prismatische Form des Bodens des Kanals 60 im Bereich 68 nicht beeinträchtigt. Andernfalls kann der Boden in diesem Bereich durch eine planparallele Platte ersetzt werden.

A N S P R Ü C H E

1. Einrichtung zum Zählen und Messen von in einer Flüssigkeit suspendierten Teilchen mit einem in einer Durchflußküvette ausgebildeten Durchflußkanal, einer Lichtquelle zur Erzeugung eines Lichtstrahles, der im wesentlichen quer zur Strömung im Durchflußkanal gerichtet ist, und einem Mikroskop, wobei der Durchflußkanal mit einem Ende an einen Zufluß für einen Förderstrom und mit dem anderen Ende an einen Abfluß angeschlossen ist und eine mit Abstand von beiden Enden liegende Einmündung für die die Teilchen enthaltende Suspension aufweist, wobei ferner der Deckabschnitt des Durchflußkanales auf dem den Beobachtungsbereich des Mikroskops enthaltenden Abschnitt zwischen der im Boden liegenden Einmündung und dem Abfluß im wesentlichen eben und durchsichtig ist und der Durchflußkanal sich zwischen zu- und Abfluß in Richtung auf den letzteren verjüngt, dadurch gekennzeichnet, daß die Verjüngung in dem den Beobachtungsbereich (36) enthaltenden Abschnitt als Annäherung des Bodens (38) an den Deckabschnitt (39) ausgebildet ist und der Beobachtungsbereich eine ebene Fläche ist, die vom Boden aus im wesentlichen parallel zum Deckabschnitt sich erstreckt.
2. Einrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Boden (33,38) zumindest im Verjüngungsabschnitt (38) eben ist.

3. Einrichtung nach Anspruch 1 - 2, dadurch gekennzeichnet, daß die den Deckabschnitt (39) und den Boden (33,38) des Durchflußkanals (30) verbindenden Seitenwände (44,45) im wesentlichen eben und parallel zueinander sind.
4. Einrichtung nach Anspruch 1 - 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Einmündung (34) in einem Abschnitt des Durchflußkanals (30) mit konstantem Querschnitt liegt, an den sich mit Abstand von der Einmündung der Verjüngungsabschnitt (38) anschließt.
5. Einrichtung nach Anspruch 1 - 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Verjüngungsabschnitt des Durchflußkanals (30) mit dem Abfluß (42) durch einen Abschnitt mit im wesentlichen konstanten Querschnitt verbunden ist.
6. Einrichtung nach Anspruch 1 - 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Boden (38) im Verjüngungsabschnitt durchsichtig ist.

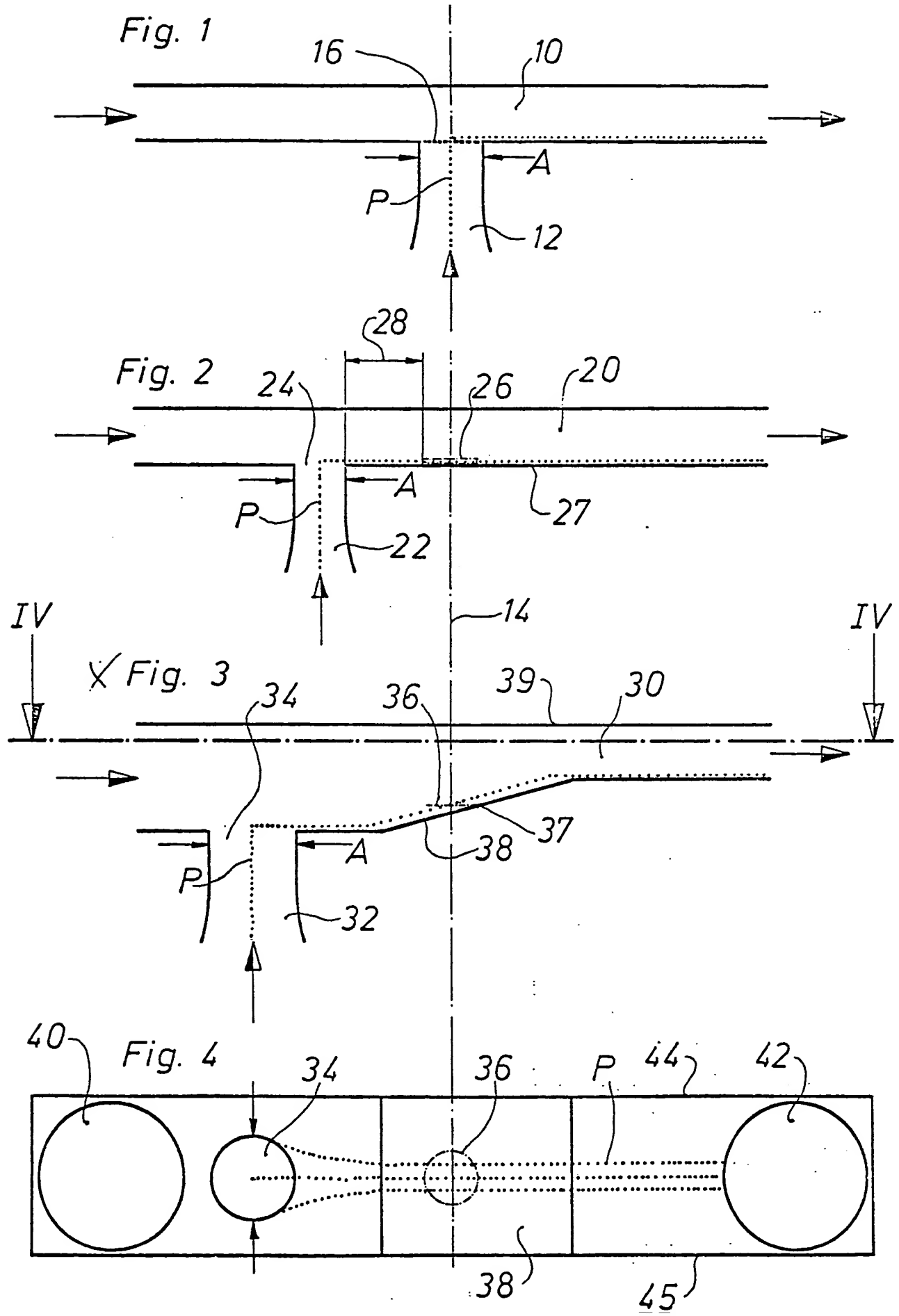


Fig. 5

